

Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)： 水環境のオフ・フレーバー（臭気） 化合物を抽出する最新の方法 アプリケーション

食品と香料

著者

D. Benanou, F. Acobas and M.R. De Roubin
Anjou Recherche, Analytical Research Department
1 place de Turenne
94417 Saint-Maurice
France
(E-mail: david.benanou@generale-des-eaux.net;
francoise.acobas@generale-des-eaux.net)

Philip L. Wylie
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA
(E-mail: phil_wylie@agilent.com)

概要

この研究の目的はStir Bar Sorptive Extraction (SBSE)を用いてガスクロマトグラフィー/質量分析法(GC/MS)によって水中の有機異臭物質を分析することである。選択イオンモニタリング (SIM) を用いて以下の6種類の化合物を定量測定した：2-メチルイソボルネオール (MIB)、ジェオスミン、2,4,6-トリクロロアニソール、2,3,6-トリクロロアニソール、2,3,4-トリクロロアニソールおよび2,4,6-トリブロモアニソール。定量限界 (LOQ) はハロアニソールでは0.1 ng/L～0.2 ng/L、ジェオスミンでは0.5 ng/L、MIBでは1 ng/Lであることが判明した。定量限界での相対標準

偏差は7%～14.6%の範囲である。回収率は純水サンプルに標準試料をスパイクすることによって評価した。回収率は化合物に応じて80%～120%の範囲であった。オルファクトメトリー(嗅覚法)とスキャンモードでのGC/MS分析を組み合わせた定性分析により、新しい臭気化合物の特性を決定することができた。本法を用いると、1日あたり20以上のサンプルを抽出、分析することが可能となった。

はじめに

水道局に寄せられる苦情のうち最も多いのは、飲料水の不快な味や臭気によるものである。その上、不快な味と臭気を除いては無害な、このような化合物が含まれているだけで、消費者はその水を危険だと思ってしまうこともある。大部分の場合では、塩素や土/カビ臭い化合物に関係した苦情である。飲料水の味や臭気の化学的原因をよく理解することは、味や臭気の問題を管理するのに役立つであろう。

30年間にわたって、飲料水中の土/カビ臭い臭気はジェオスミン、MIBあるいはハロアニソールが含まれていることに関係があると一般に考えられていた[1,2,3]。MIBおよびジェオスミンは強い臭気を有し、ひじょうに低閾値で臭気を感じることができる。MIBは木あるいはショウノウの臭気を有し、閾値は5～10 ng/Lの範囲であるが、ジェオスミンは特有の土の臭気を有し、水中で検出可能な閾値は1～10 ng/Lの範囲である[4,5]。水に含まれるこのような化合物は、かつてはシアノバクテリアや真菌



Agilent Technologies

[9,10,11]のみならず、生水に存在する放線菌あるいは放線菌の代謝物[6,7,8]にも関連していた。ハロアニソールは低閾値のカビ臭い臭気を有している。たとえば2,4,6-トリクロロアニソールの臭気閾値は0.05~4 ng/Lの範囲である。ハロアニソールは水処理時あるいは配水システム[12,13,14]を介した輸送時に微生物によるハロフェノールのメチル化によって形成されるものと思われる。ハロフェノールは飲料水の塩素滅菌時に形成され、また、ハロフェノールには天然のハロゲン化副生成物[15]として同定されているものもある。

水に含まれるこのような化合物はきわめて低濃度で臭気を発するため、長い間、その同定はまさに分析の問題であった。水に含まれる臭気化合物の同定に用いられる主要な分析法はClosed Loop Stripping Analysis (CLSA) であった。この方法では[16,17]、揮発性物質をストリッピングするために密閉した閉回路系に40°Cの空気または不活性ガスを用いており、これに水サンプル中の有機物が放出される。この放出された物質は閉回路に留まっているごく少量の活性炭に吸着される。最後に、溶媒を用いて活性炭から有機物を溶出し、GCによって分析する。「ページアンドトラップ (Purge and Trap)」分析はCLSAと同じ原理に基づいているが、感度が低いことから、100 ng/L以上の濃度域にひじょうに有用で

ある。しかし、この2つの「ストリッピング」法は揮発性が低い化合物および（あるいは）強極性の化合物に対しては十分な効果を上げられなかつた。マイクロ固相抽出 (SPME) 法を用いている研究者もいる[18]。クロマトグラフィーの観点から見ると、MSを検出器としたGCは性能のよい分離、同定および定量を組み合わせた唯一の検出法である。

今日では、感度がよく、簡便かつ迅速な新しい抽出法が従来のストリッピング法に代わる選択肢となっている。このSBSE法は吸着ではなく、sorption(分配)に基づいている。その原理は、0.5mmのポリジメチルシロキサン (PDMS) 相でコーティングされたガラスジャケットにマグネチックスターーラーの攪拌子が組み込まれている。適当量のサンプルをバイアルに入れ、攪拌子を加えて、30~120分攪拌することによって抽出を行う。抽出後、攪拌子をガラス製加熱脱着チューブに投入した後、これを加熱脱着装置に入れ、200~300°Cで脱離する。GC/MSを用いて化合物を検出する。

本研究の目的はSBSE法を用いて水中の6種類の臭気性有機化合物を分析することである。この6種類の化合物（表1）はそれぞれの臭気閾値未満または近似のサブng/L濃度で定量化する必要がある。

表1. 分析した臭気化合物

名称	略号	味	臭気閾値 (ng/L)	CAS番号
2-メチルイソボルネオール	MIB	土臭	5~10	N/A
2,4,6-トリクロロアニソール	2,4,6-TCA	カビ臭	0.1~2	6130-75-2
2,3,6-トリクロロアニソール	2,3,6-TCA	カビ臭	0.1~2	50375-10-5
ジェオスミン	ジェオスミン	ショウノウ臭	1~10	19700-21-1
2,3,4-トリクロロアニソール	2,3,4-TCA	カビ臭	0.2~2	54135-80-7
2,4,6-トリブロモアニソール	2,4,6-TBA	カビ臭	0.15~10	607-99-8

SBSEの原理

水環境のサンプルに含まれる臭気有機化合物の分析は、マトリックスから溶質を抽出、濃縮した後に行う必要がある。約10年前に、SPMEと呼ばれる新しい方法が開発された。分配に基づくこの抽出法では、ニードルデバイスの外部をコーティングした比較的薄いPDMS相（7~100 μm）を抽出媒体として用いた。分配による濃縮には吸着法より優れた利点がある。この利点には以下のものがある。

- ・計算上から求めたまたは実験的から求めた $K_{O/W}$ によって分配率を予測可能[19]
- ・置換の影響がない（破過容量の限界がない）
- ・より迅速かつ穏やかな脱離

ストリッピング法に対して、SPMEおよびSBSEは本来、PDMS相と水（または気体）マトリックスとの間の溶質の分配に基づいた平衡法である。実際に、この2つの方法の原理は液-液抽出（LLE）と同様であるが、用いる溶媒はごく少量である（SPMEでは0.5 μLのPDMS、SBSEでは24~100 μLのPDMS）。

SBSEに関する理論はSPMEとまさに同様である。PDMSと水との分配係数（ $K_{PDMS/W}$ ）はオクタノール-水の分配係数（ $K_{O/W}$ ）に比例するという近似法を用いると[19]、平衡は等式1によって示すことができる。回収率（R）は等式2に基づいており、ここで m_{PDMS} はPDMS相に分配された量、 m_W は抽出されない分析対象物の量、 β は水の容量/PDMSの容量の比であり、 m_0 は開始時の量である。

$$1. K_{O/W} \approx K_{PDMS/W} = \frac{C_{PDMS}}{C_W} = \frac{m_{PDMS}}{m_W} \times \frac{m_{PDMS}}{m_W} = \frac{m_{PDMS}}{m_W} \times \beta$$

$$2. R = \frac{m_{PDMS}}{m_0} = \frac{\left(\frac{K_{O/W}}{\beta} \right)}{1 + \left(\frac{K_{O/W}}{\beta} \right)}$$

分析対象物質のサンプルからの回収を支配する唯一のパラメータは、分配係数の比率および攪拌子にコーティングしたPDMSと水サンプルとの相比である。

図1は $K_{O/W}/\beta$ 比の関数として抽出される化合物の回収率を示す。 $K_{O/W}/\beta=1$ の場合には、回収率は50%である。 $K_{O/W}/\beta$ が低い場合には、回収率は $K_{O/W}/\beta$ にほぼ比例し、また、抽出効率は最小となる。

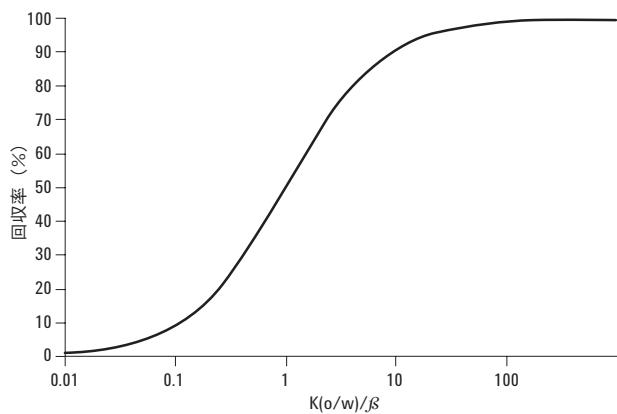


図1. オクタノール-水分配係数および相比の関数としての回収率。

SPMEでは、ファイバーにコーティングするPDMSの最高容量は0.5 μLである。典型的なサンプル容量が10 mLの場合、相比は 2×10^4 に等しい。これは、 $K_{O/W}$ が 10^5 を超える化合物の場合にのみ定量抽出が得られることを示唆している。きわめて限られた数の成分のみがそのような高い $K_{O/W}$ 値を示しており、さらに、最近ではこの種の極性のない溶質はSBSEで用いたように、攪拌子およびガラス製バイアルに強く吸着することが示されている[20]。一方、SBSEではさらに好ましい状況が得られる。100 μLのPDMSでコーティングした攪拌子は使いやすく、 β 係数が100となるように水10 mLを抽出することができるが、これは $K_{O/W}$ が500を超える溶質はPDMSでコーティングした攪拌子に定量的に抽出されることを示唆している。これによって直接定量されるだけでなく、 10^5 未満の $K_{O/W}$ を示す化合物にも十分な感度が得られる。

図2では、SPMEおよびSBSEについて水サンプル10-mLから抽出される分析対象物質の理論的な回収率を示す。これから明らかのように、SBSEではSPMEと比較してかなり低い $K_{O/W}$ で定量抽出が得られる。これは単にSBSEでは相比がかなり低いことによるものである。SBSEによる抽出が不完全な場合には、既知濃度の対象物質を含む水サンプル用いてキャリプレーションを行うことも可能である。

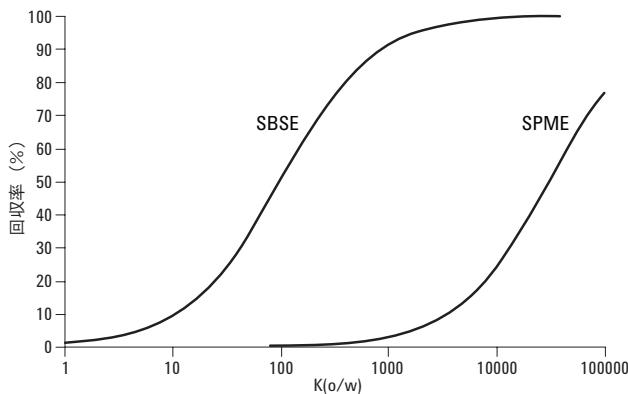


図2. オクタノール-水分配定数およびSBSEとSPMEの典型的な相比（すなわち、SPMEファイバーのPDMS容量0.5 μL 、SBSEの攪拌子のPDMSの容量100 μL および抽出された水の容量10.0 mL ）の回数としての理論的回収率。

これまでのところ、SBSEの平衡条件に限定して検討されている。しかし、コーティングの厚さ（0.5または1 mm）を考えると、抽出速度（必要な平衡時間）も考慮すべき重要な要素である。コーティングの厚さのために、物質移動に対する抵抗はすべてコーティングにあり、また、サンプルは完全に攪拌されると考えられる。この状況では、等式3を当てはめることができる[21]。

$$3. t_{95\%} = \frac{d_{PDMS}^2}{2D_{PDMS}}$$

ここで、 $t_{95\%}$ は抽出率95%に達するまでに要する時間、 d_{PDMS} は用いたPDMS層の厚さ（m）、 D_{PDMS} はPDMSの測定条件下における分析対象物質の拡散係数（ $\text{m}^2/\text{秒}$ ）である。たとえば、ベンゼン（ $D_{PDMS}=2.5 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{秒}$ ）では、平衡時間は30分である。

実験

装置

ガスクロマトグラフはオルファクトメトリー検出（GERSTEL® GmbH, Mülheim a/d Rhur, Germany）を組み合わせたAgilent 6890 -Agilent 5973 MSD (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) を用了。このクロマトグラフにはGERSTEL GmbH (Mülheim a/d Rhur, Germany) の加熱脱着装置 (TDSA) およびPTVインレット (CIS-4) を装着した。

サンプルは、PDMS相厚さ0.5mmおよび長さ20mmの攪拌子（GERSTEL-Twister®とも称される）を用

いて抽出した。攪拌子は以下のような脱着温度プログラムを用い、スプリットレス・モードで加熱脱離した：30°C (0.8分)、60°C/分昇温、280°C (5分)。脱離した溶質は-100°CのCIS-4でクライオフォーカシング (cryofocus) した。攪拌子から脱離させた後、PTVインレットを10°C/秒で300°Cまでプログラムし、2分間維持した。注入はソルベントモードで行った。化合物はヘリウム・キャリヤーガスを1.5 mL/分（コンスタントフローモード）で用い、30 m \times 0.25 mm id \times 0.25 μm のHP5-MSキャピラリーカラムで分離した。オープンは10°C/分で50°C (2分) から200°Cまで昇温し、次いで25°C/分で300°C (2分) までプログラムした。検出は定量分析ではSIMモードで、定性分析ではスキャンモードで行った。オルファクトメータートランスファーラインは250°Cで加熱した。キャリアガスの1/3は質量分析計に、2/3はオルファクトメーターに送った。

標準化学物質および試薬

- メタノール（農薬等級）、Merck (Darmstadt, Germany) 製
- プランクおよび標準を調製する天然水
- 標準化合物の2-メチルイソボルネオール、2,4,6-トリクロロアニソール、2,3,6-トリクロロアニソール、2,3,4-トリクロロアニソール、2,4,6-トリプロモアニソール、ジェオスミンおよび2,4,6-トリクロロアニソール-d₅、Promochem (France) 製
- 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ のMIB、ジェオスミンおよびハロアニソールを含むストック溶液は天然水で調製した。このストック溶液の保管条件：4°Cで1か月間
- 2,4,6-TCA-d₅の内部標準液は天然水で20 $\mu\text{g}/\text{L}$ に調製した。この溶液の保管条件：4°Cで1か月間

抽出法

抽出は二重にし、水サンプル100 mLおよびメタノール5 mLを入れた125-mLバイアルにTwister (PDMSの厚さ0.5mm、長さ20mm) を入れて行った。各バイアルに2,4,6-TCA-d₅の内部標準液40 μL をスパイクした。二つのサンプルを室温で2時間攪拌した後、Twisterを二つのサンプルから取りだし、清浄な紙ワイプで乾燥させた。感度を高めるために、2本のTwisterを1本のガラス製脱着チューブに入れ、上記の条件を用いて脱離した。

結果および考察

質量選択的検出器 (MSD) の調整

感度をさらに高めるために、希望するイオンの透過性が高まるようにMSDをマニュアルで調整した。

Perfluoro-5,8-dimethyl-3,6,9-trioxadodecane (PFDTD) をキャリブレーション試薬として用いた。69、219および502 PFTBAイオン比の最適モニタリングは従来のオートチューンを用いて行う。219/69および502/69の比率はかなり変動することもあるが、通常はそれぞれ約60%および3%である。対象化合物の質量は112~344の範囲にあることから、マニュアル調整を用いて219/69の比率を110%に、414/69の比率を10%に合わせた。414イオンは質量的に分析対象物質の対象イオンに近いことから、502の代わりに用いた。この3つの比率は2つの方法のうち、いずれを用いても得ることができた。最初のアプローチはイオン69、219および414についてリペラーゼを増減させ、219に最適な反応を選択した。2番目の方法はAgilent ChemStationの選択イオンに希望する存在度およびイオン比を指定することによってターゲットチューンを行った。

この手動による調整は構造的情報を必要としなかったことから、定量的アプリケーションのみに用いた。この手動による調整を用いると、Probability Based Matching Systemによって、未知のスペクトルとNISTまたはWileyライブラリーの標準スペクトルとの間に十分な一致が得られなかった。

MIB、ジェオスミンおよびハロアニソールの質量スペクトル

図3は表1に記載した対象化合物の実験的な質量スペクトルを示す。SIMモードのモニタリングイオンについては、MIBでは95、108、110を選択し、ジェオスミンでは112および125、3種類のクロロアニソールでは210および212、2,4,6-トリブロモアニソールでは346および344を選択した。内部標準の2,4,6-トリクロロアニソール-d₅は m/z 217でモニタードした。

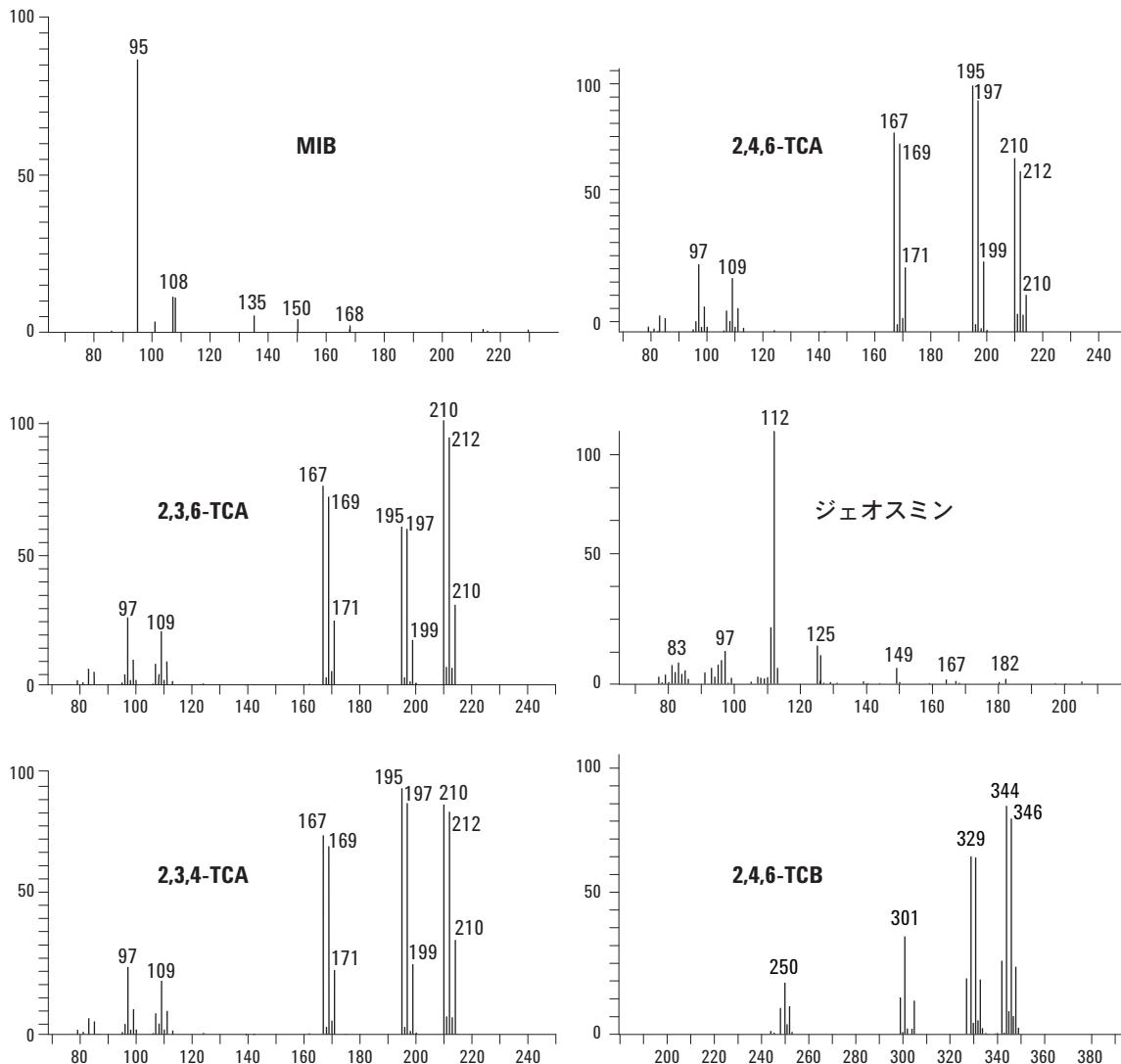


図3. 対象化合物の実験的な質量スペクトル。

図4は各対照化合物の2 ng/Lをスパイクした天然水のSIMクロマトグラムを示す。

分～300分の抽出時間後に分析した。図5は抽出時間と対象化合物で得られた反応との関係を示す。

抽出時間の影響

この実験では化合物のPDMSへの吸着速度を測定した。各化合物の2 ng/Lをスパイクした天然水は、15

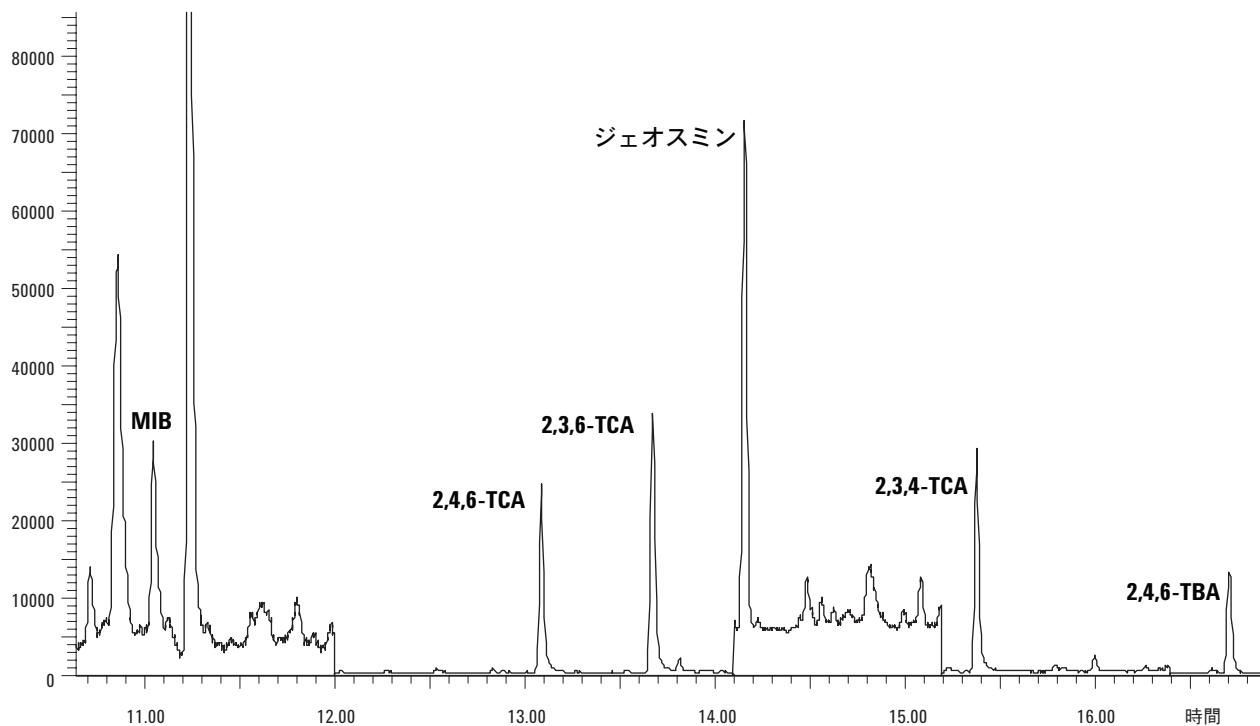


図4. 対象化合物のSIMクロマトグラム。

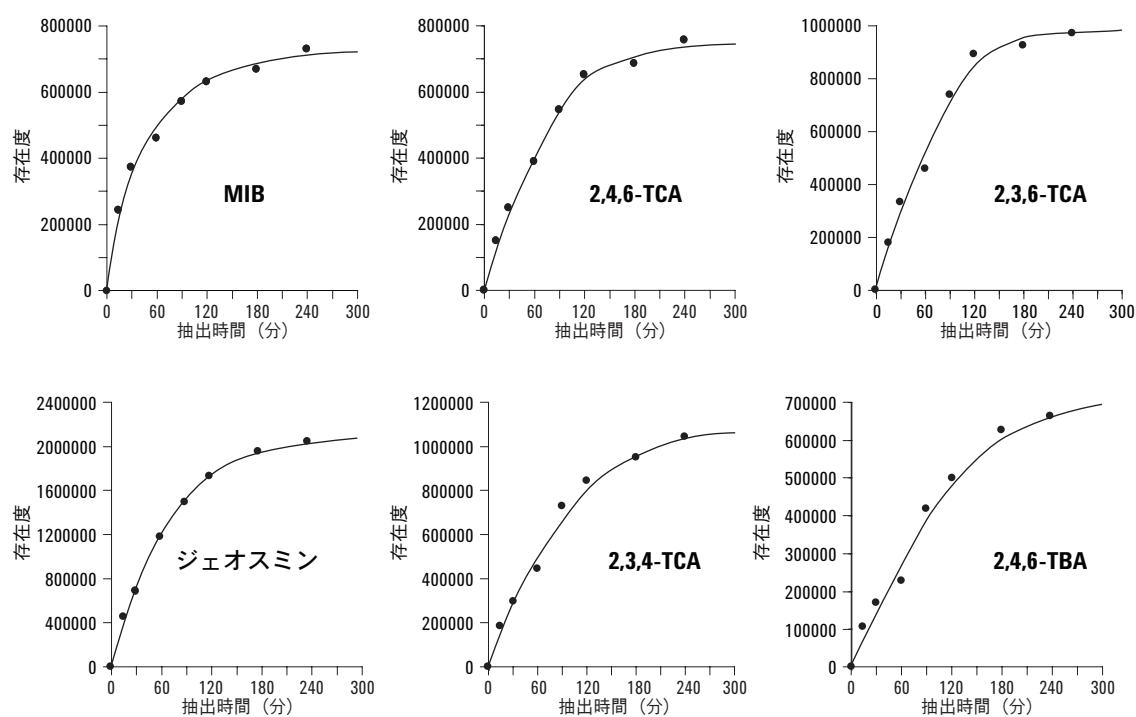


図5. PDMSでの抽出量に及ぼす抽出時間の影響。

いずれの化合物についても、吸着速度は最初の120分間では速やかで、その後、平衡に達することなく遅くなる。サンプル処理量の多いルーチンの分析では、経験的に120分の抽出時間を選択した。

サンプル容量の影響

等式2より、最大回収率はオクタノール/水分配係数($K_{O/W}$)を用いて推定することができる。対象化合

物の $\log K_{O/W}$ 値を実験的に測定し、KnowWinソフトウェアを用いて計算した[19]。

この実験では、10~200 mLの異なった容量の天然水サンプルに各化合物を1 ngスパイクした。長さ2cmのTwister (47 μ L PDMS) を用いて2時間の抽出を行った。図6は計算上の $K_{O/W}$ (B) および実験的な $K_{O/W}$ (C) 値を用いて推定した理論的回収率を比較として、実験的な回収率 (A) を示す。

実験結果は理論値と一致したが（サンプル容量が増加するにつれて、回収率が低下する）、期待値よりも下回っていた。この実験より、攪拌2時間後に平衡に達しないことが判明した。サンプル容量が増加すると、実測値と期待値の差が大きくなり、これが化合物によって異なった。

表2. 検討した化合物のオクタノール/水分配係数($K_{O/W}$)

名称	実験的な $\log K_{O/W}$	計算上の $\log K_{O/W}$
2-メチルイソボルネオール	3.31	2.85
2,4,6-トリクロロアニソール	3.85	4.01
2,3,6-トリクロロアニソール	3.64	4.01
ジェオスミン	n/a	3.57
2,3,4-トリクロロアニソール	3.74	4.01
2,4,6-トリブロモアニソール	4.48	4.75

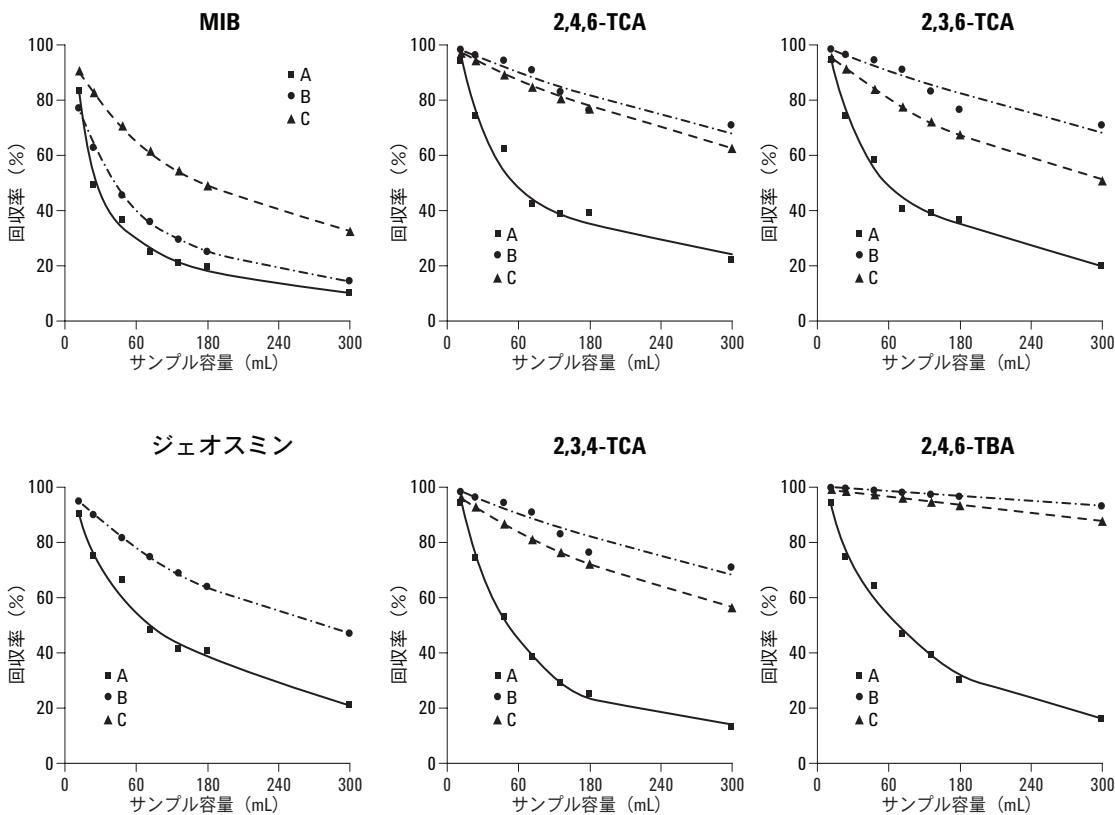


図6. 回収率に及ぼすサンプル容量の影響。A: 実験の結果。B: 理論的な結果 (計算上の $K_{O/W}$)。C: 理論的な結果 (実験的な $K_{O/W}$)。

しかし、図7に示すようにサンプル容量に伴ってPDMS媒体でも濃縮が高まる。大部分の化合物では、100 mLのサンプル容量まで抽出量が増加し、200 mL容量では有意な反応増加が得られない。臭気閾値に近い濃度を達成するためには、同時に脱離する各サンプルの2つの部分試料（100-mL）および2つのTwisterを用いることが必要であった。

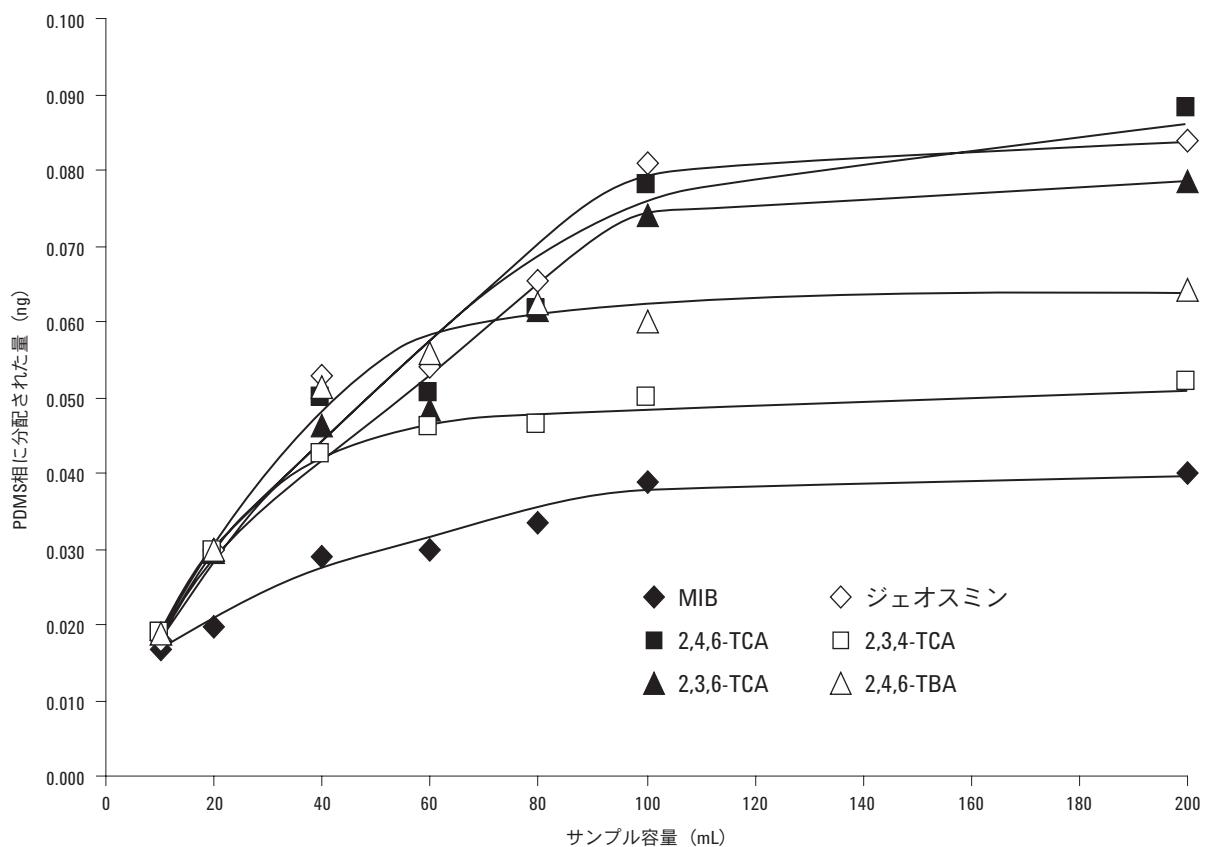


図7. 抽出量に及ぼすサンプル容量の影響。

抽出後の保管の影響

各化合物の2 ng/Lをスパイクした天然水サンプルの抽出は6回繰り返した。100-mLの各サンプルを1つのTwisterによって2時間抽出した。1つのTwisterは直ちに分析し、他のTwisterはその後の分析に備えて密閉したバイアルに入れ、4°Cで保管した。図8はすべての化合物の反応に及ぼす保管時間の影響を示す。

以上の結果から、1週間の保管期間中に化合物の減量が起こらないことは明らかであり、以下のことが示唆されている。

- クロマトグラフィー分析を直ちに行うことができない場合に、水サンプルを保管する代わりに抽出後にTwisterを保管することが可能である。
- 実験室に不快な味あるいは臭気のある水サンプルを送る代わりに、消費者の家で臭気化合物を直接抽出することも可能となる。

測定法のバリデーション

本法はAFNOR規則XP T 90-210に従ってバリデーションを行った。このバリデーションでは以下のことでについて検討する。

- 直線性の範囲：直線性は0.1～10 ng/Lの範囲の7濃度域で検討し、5回繰り返した。キャリブレーションは2,4,6-TCA-d₅を用いて内部標準モードで行った。直線性が確認されるのは相関係数 (R) が0.999を超える場合である。
- 予想されるLOQでスパイクした10個の繰り返しサンプルの相対標準偏差 (RSD) が20%未満の場合に、LOQの妥当性が確認される。
- 繰返し精度は%RSDとして表わし、8種類の水サンプルの3回の繰り返し測定に基づいて計算する。これは20%未満でなければならない。
- 正確度 (trueness) はスパイクいた真水サンプルの回収率 (%) として表わし、80%～120%でなければならない。
- 再現性はキャリブレーション用検査標準 (2 ng/L) の%RSDとして表わす。これは20%未満でなければならない。

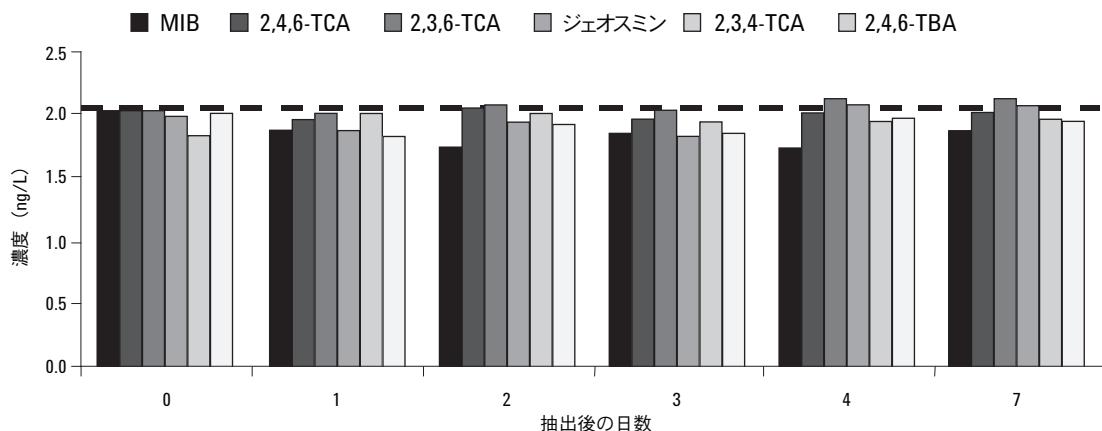


図8. 抽出後のTwister保管時間の影響。

このバリデーション結果は表3に要約し、検量曲線は図9に示す。

表3. 対象化合物のバリデーション結果

	LOQ, R	LOQ, ng/L	繰返し精度 %	正確度 %	再現性 %
MIB	0.9987	1	4-10	89-110	13
2,4,6-TCA	0.9998	0.1	1-5	97-110	4
2,3,6-TCA	0.9998	0.1	4-11	97-117	5
ジェオスミン	0.9991	0.5	2-10	83-101	9
2,3,4-TCA	0.9998	0.2	7-15	87-110	13
2,4,6-TBA	1.0000	0.2	2-9	91-104	15

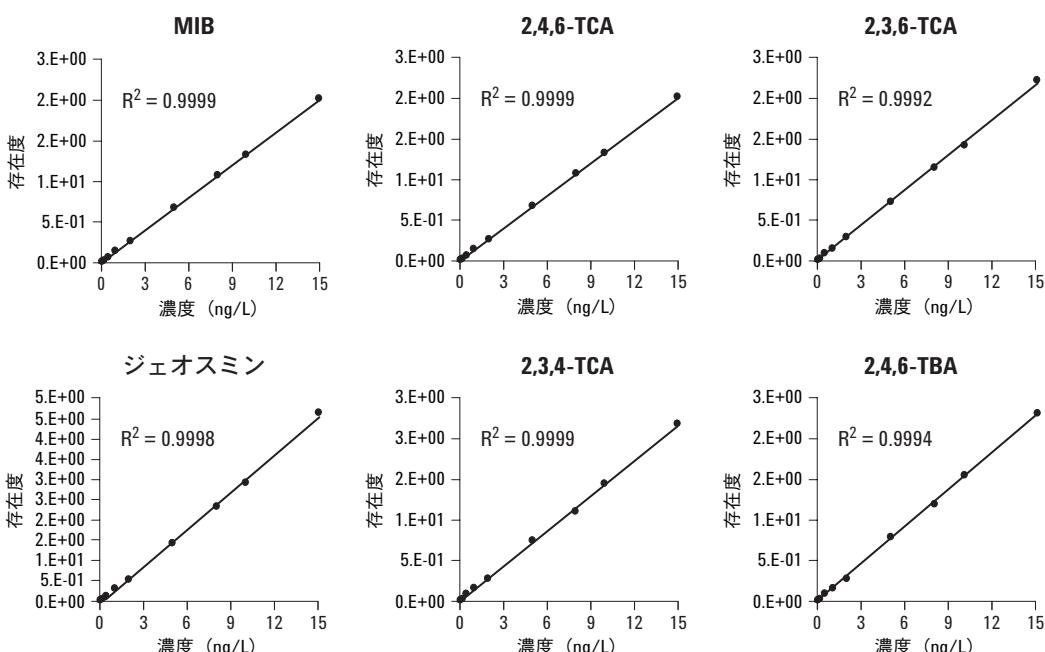


図9. 検討した化合物の検量曲線。

対象化合物のいずれもバリデーションの判定基準に達した。

真水サンプルへの応用

味および臭気の問題に対する苦情に従って各種の水サンプルを分析した。

ケース1

2つのサンプル (AおよびB) を消費者の家で採取した。サンプルAは著しいかび臭があり、サンプルBは弱いかび臭と著しい金属臭を呈した。サンプルAおよびBはSBSEによって処理し、MIB、ジェオスミンおよびハロアニソールを検出するためにSIMモードで分析した。

各サンプルの定量結果およびクロマトグラムを表4および図10に示す。

表4. サンプルAおよびBにおける対象化合物の濃度

	サンプルA [C] (ng/L)	サンプルB [C] (ng/L)
2-メチルイソボルネオール	<1	<1
2,4,6-トリクロロアニソール	8.9	0.2
2,3,6-トリクロロアニソール	<0.1	<0.1
ジェオスミン	5.2	<0.5
2,3,4-トリクロロアニソール	<0.2	<0.2
2,4,6-トリブロモアニソール	0.4	1.3

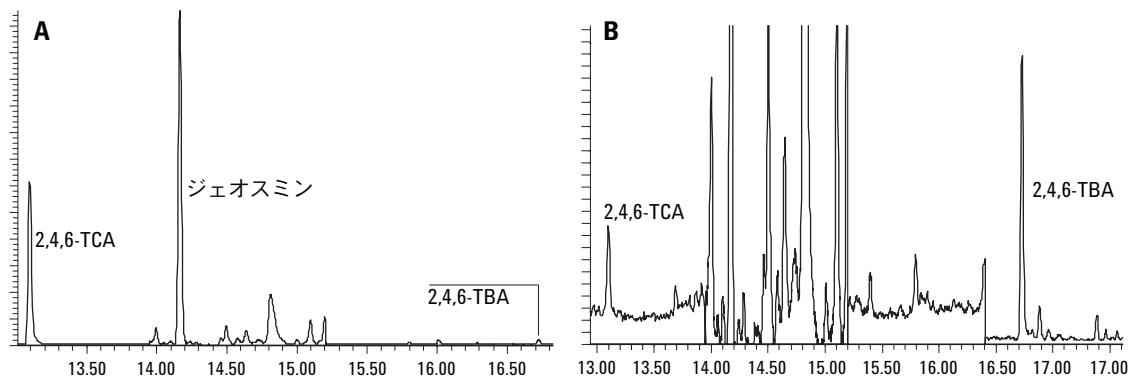


図 10. サンプルAおよびBのSIMクロマトグラム。

両サンプルで確認された濃度は確実にカビ臭の原因となり得る。他の臭気化合物を同定するために、内部標準を用いずに水サンプルをSBSEによって再度処理し、スキャンモードでGC/MS分析を行った。

サンプルAでは、オルファクトメトリー検出によって2,4,6-TCAおよびジェオスミンのリテンションタイムに顕著なカビ臭が認められ、さらに、8分にある医薬品の臭気、14分に溶媒に類似した臭気が認められた。サンプルBでは、オルファクトメトリー検出によって2,4,6-TBAのリテンションタイムに軽度

なカビ臭が認められ、さらに、約8分にある医薬品の臭気が認められた。

サンプルAのスペクトルではアイソトープ比の解釈によって2種類のハロゲン化合物、すなわち、臭化物（8.4分）および塩化物（13.9分）が認められた。医薬品の臭気はジブロモヨードメタン（塩素化副生成物）と関連していた。溶媒の臭気は図11に示すようにテトラクロロベンゼンと関連していた。サンプルBでは、ジブロモヨードメタンも検出された。

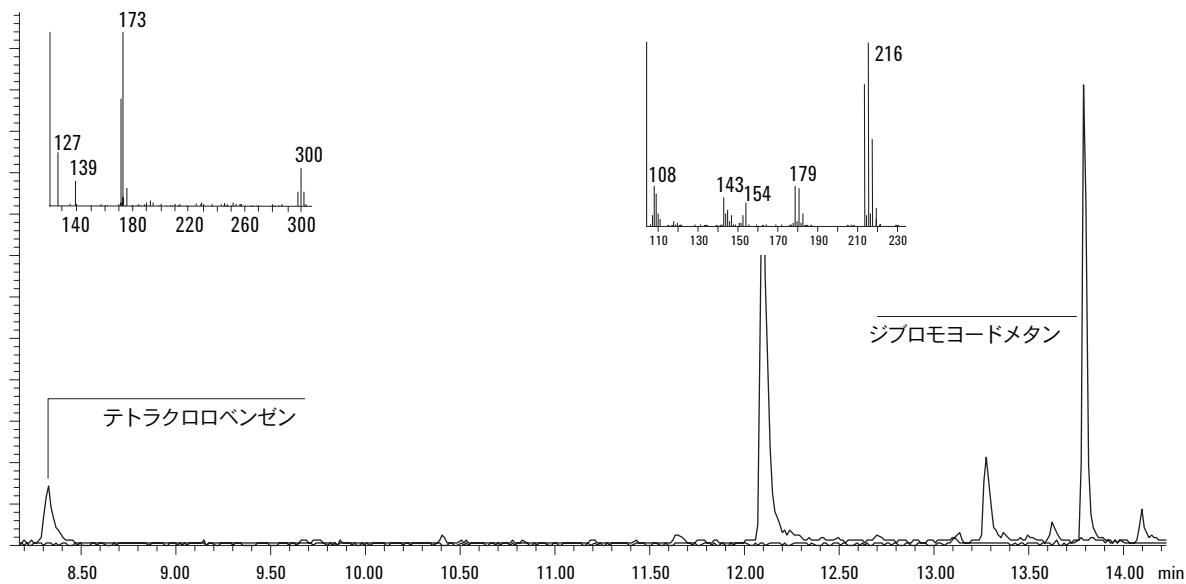


図 11. サンプルAのスキャンクロマトグラム。

ケース 2

この場合では、パリ付近の貯水槽で異臭が発生した。貯水槽のコーティングにひび割れが現われた後、まもなくして水の感覚機能的特性 (organoleptic quality) の低下が認められ、重要な有機体が内面に認められた。苦情を受けた後、貯水槽が水源になっている水に対して何度か臭気分析を実施した。その結果、処置した水の塩素の味が強力なカビの味によって隠蔽されていることが判明した (閾値検査番号: 5)。

この貯水槽に貯蔵された飲料水は2段階の処理工程を受けた地下水から得られている。水は最初に曝気され、鉄を除去するための砂濾過を行った後、貯水槽に入る直前に水に塩素が添加される。貯水槽のコーティングは貯蔵期間中に水が浸透しないようにする必要があるが、これは水溶液中で灰色弹性セメントと白色合成樹脂を混合することによって製造され

た合成コーティングである。このコーティングの理論上の力学特性と物理特性により、高い弾性が得られ、有機化合物が放出されない。対象の臭気化合物を探索するために、濾過した塩素滅菌水をSBSEによって処理した後、定量分析を行った。

各サンプルの定量結果およびクロマトグラムは表5および図12に示す。

表 5. 濾過水および塩素滅菌水における対象化合物の濃度

	濾過水 [C] (ng/L)	塩素滅菌水 [C] (ng/L)
2-メチルイソボルネオール	<1	<1
2,4,6-トリクロロアニソール	<0.1	<0.1
2,3,6-トリクロロアニソール	<0.1	<0.1
ジェオスミン	<0.5	<0.5
2,3,4-トリクロロアニソール	<0.2	<0.2
2,4,6-トリブロモアニソール	<0.2	5.6

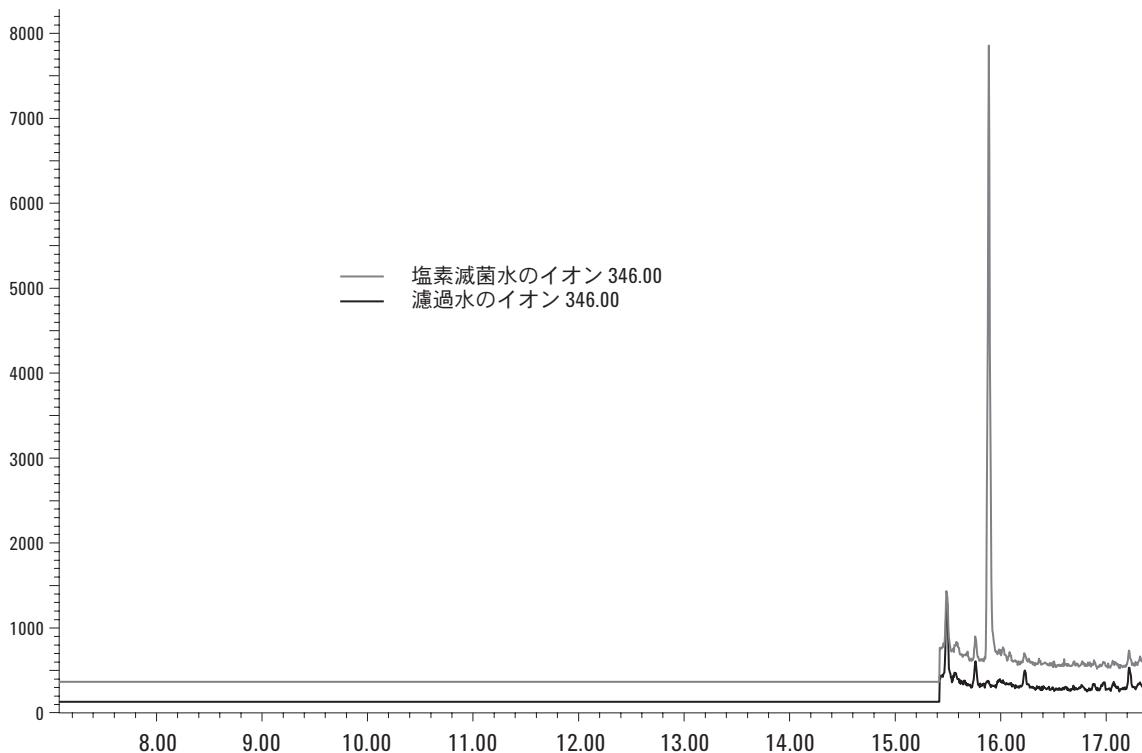


図 12. 塩素滅菌水および濾過水のEIC (m/z : 346)。

6つの対象物質で認められた唯一の化合物は5.6 ng/L濃度の2,4,6-トリブロモアニソールであった。2,4,6-TBAの存在によって、水が著しくカビ臭い味になっていたことを容易に説明できる。濾過水では対象化合物のいずれも認められなかった。

濾過水のオルファクトメトリー検出によるGCでは、特有の臭気はいずれも認められなかった。しかし、塩素滅菌水では、約8分、14分および17分の各種のフェノール臭に加えて、2,4,6-TBAのリテンションタイムに著しいカビ臭い臭気が認められた。フェノール化合物がGCの分離形状を良くするために、これらは水サンプル100 mLに対して1gのK₂CO₃および無水酢酸500 μLを用いて誘導体化した。定性分析ではスキャンモードで検出を行った。MS検出および匂いをかいいで得られた結果を表6および図13のスキャンクロマトグラムに示す。

表6. サンプルBのクロマトグラフィーのランタイムに得られた臭気

ランタイム(分)	臭気	強度	帰属
8.5	フェノール臭	++++	フェノール臭
13.7	フェノール臭	++	2,4,6-トリクロロフェノール
15.9	カビ臭		2,4,6-トリブロモアニソール
16.8	フェノール臭	+++	2,4,6-トリブロモフェノール

以上の結果から推定できたのは、貯水槽のコーティングからフェノールが放出し、このフェノールが残留塩素によってハロゲン化して2,4,6-TCPおよび2,4,6-TBPになったということである。その後、2,4,6-TBAがコーティング表面に存在する生物によって合成された。2,4,6-TCPおよび2,4,6-TBPが存在するにもかかわらず、なぜ2,4,6-TBAのみが生物によって形成されたのかはまだ説明できない。

ケース3

この場合は、配水システム網に沿った水の感覚機能特性の低下に関する検討である。苦情は処置場から遠くに住む消費者のみから寄せられた。2つのサンプルを採取した。1つ目は処置場の出口（サンプルA）、2つ目は配水網の末端にある消費者の家（サンプルB）で採取した。サンプルAは塩素臭のみを呈したが、サンプルBはカビ臭く、沼地や土の臭気を呈した（閾値検査番号：>10）。

2つのサンプルはMIB、ジェオスミンおよびハロアニソールをモニターするためにSBSEによって処理した。その結果、サンプルAにはこれらの化合物はないことが示された。サンプルBでは、2,4,6-TCAおよび2,3,4-TCAがそれぞれ0.1 ng/Lおよび0.2 ng/L濃度で検出された。しかし、これらの濃度では著しい味および臭気の悪化を説明できない。内部標準を用いて、新鮮な水サンプルをSBSEによってもう一度処理した。これらはスキャンモードのTDS/GC/MSおよびオルファクトメトリーによって分析した。

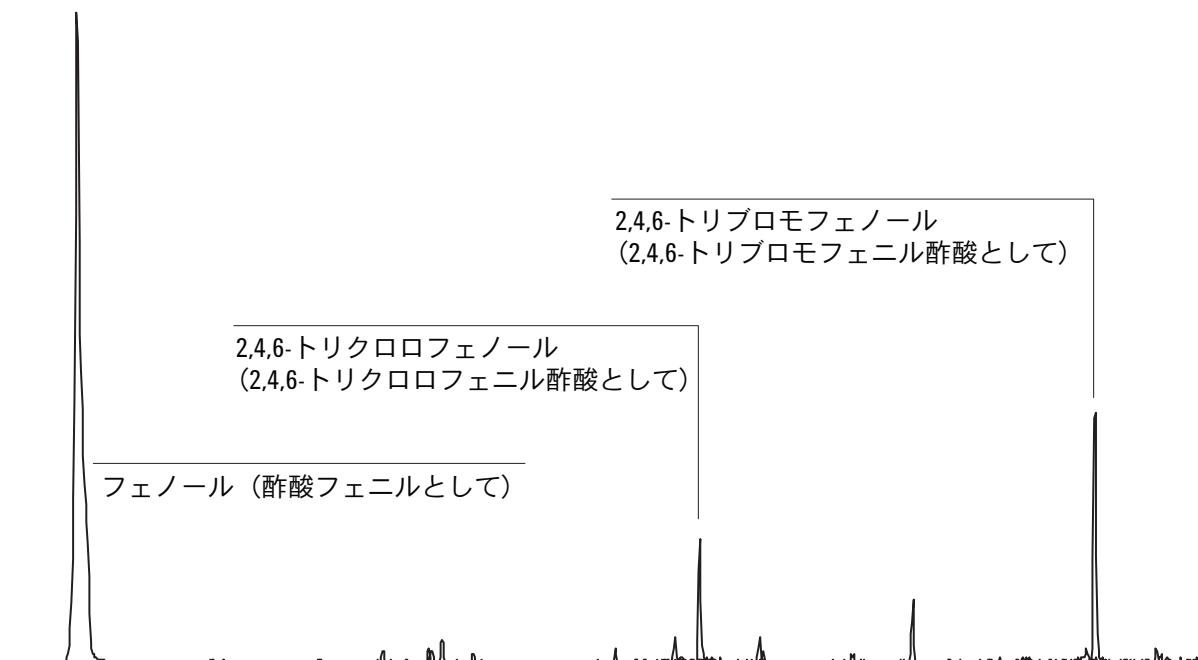


図13. *insitu*誘導体化後の水サンプルのTIC。

オルファクトメトリーによって、サンプルBではクロマトグラフィーのランタイムに沿って各種の臭気を検出できたが、サンプルAでは臭気は何ら認められなかった。MS検出および匂いをかいで得られたサンプルBの結果を表7に示す。

表7. サンプルBのクロマトグラフィーのランタイムに得られた臭気

ランタイム(分)	臭気	帰属
7	汗	フェニルアセトアルデヒド
7.8	沼地	ジメチルトリサルファイド
10.7	柑橘類	デカナール
12	花	ウンデカナール
12.8	汗	限定されない
12.9 to 15.2	カビ	アルキルプロモベンゼン異性体
16.07	悪臭	イソプロピルドデカノエート
16.8 to 17.4	タール	ジイソプロピルナフタレン
20.15	タール	ドデカヒドロフェナントレン

7種類の臭気が匂いをかぐことによって検出され、それらの中には臭気プロファイル分析と一致するものもあった。たとえば、沼地の臭気はジメチルトリサルファイドと関連していた。カビの臭気は13~15分に匂いがし、それらは各種のアルキルプロモベンゼン異性体と一致し、その主な成分は2-メチル-4-イソプロピルプロモベンゼンであった。悪臭とタール臭はそれぞれイソプロピルドデカノエートとドデカヒドロフェナントレンに一致した。甘い果実様の芳香臭(アルデヒド化合物)はテイスターによって検出されなかった。

図14はサンプルAおよびBで匂いをかぐことができた各化合物のトータルイオンクロマトグラム(TIC)の比較を示す。

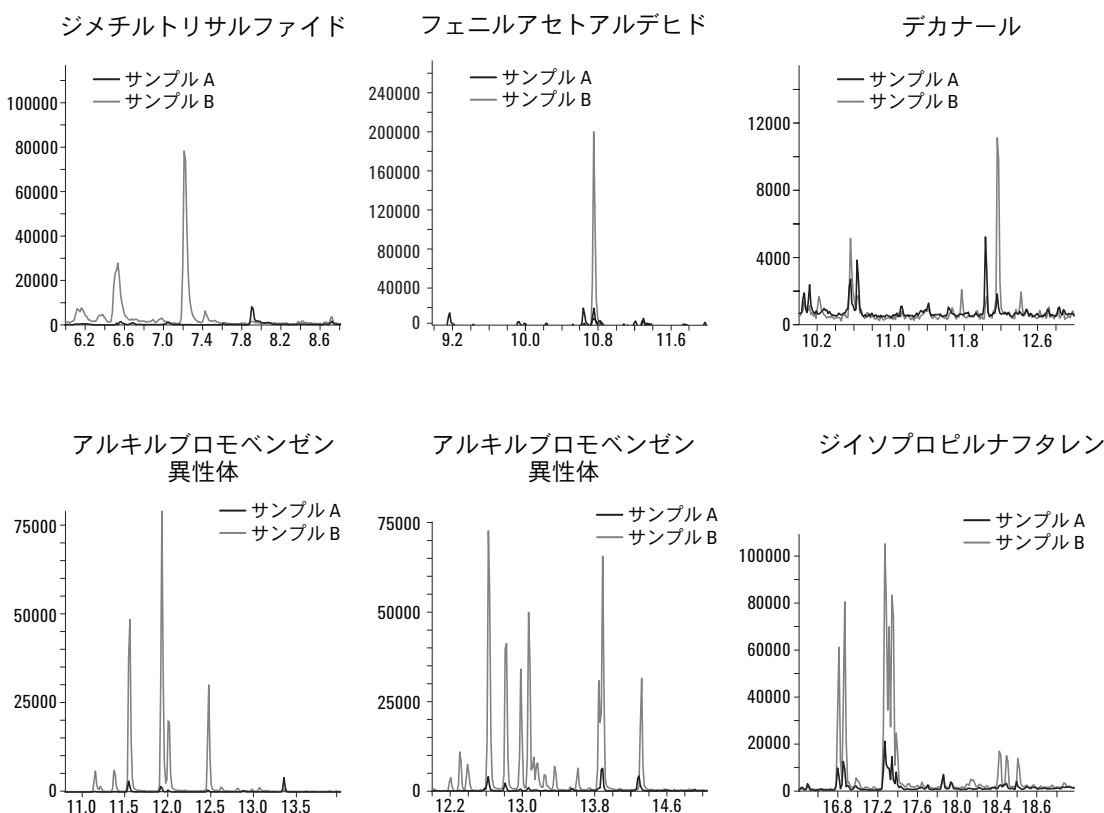


図14. ジメチルトリサルファイド、フェニルアセトアルデヒド、デカナール、アルキルプロモベンゼン異性体およびジイソプロピルナフタレンに関するサンプルAおよびサンプルBのEIC。

結論

- 飲料水の味および臭気の問題は複雑な混合物に含まれるきわめて少ない痕跡量の化合物に起因することが最も多い。そのため、臭気化合物を定量するにはGC/MSが最良の分離および検出の選択肢である。
- 水サンプル中のMIB、ジェオスミンおよびハロアニソール化合物の測定に用いられる迅速SBSE-TD-GC/MS-オルファクトメトリー法を開発した。TD-GC/MSとSBSEを組み合わせることによって、それらの臭気閾値未満あるいはそれに近い濃度のすべての臭気成分を定量化することが可能になった。
- 測定法の感度を最適化するために、抽出時間、サンプル容量および保管期間の影響を検討した。最終的な方法はAFNOR規制に従ってバリデーションを行った。直線性を検査し、相関係数 (R) は0.9987～1.0000の範囲であった。繰返し精度および再現性の測定値は15%未満であった。回収率はいずれも化合物に応じて87%～117%であった。
- 抽出化合物の損失を伴わないTwisterの保管期間は抽出後少なくとも7日間である。
- 実際に臭気を有する水サンプルに適用した場合、SBSEは臭気プロファイル分析、MS分析およびオルファクトメトリー検出とよい相関性を示した。対象化合物に加えて、きわめて低濃度の未知の臭気化合物についても従来法で考えられるよりも迅速に同定することができた。

参考文献

1. J. Mallevialle, and H. Suffet. Identification and treatment of tastes and odors in drinking water. *American Water Works Association*, Denver, Colorado. (1987).
2. S. E. Jensen, C. L. Anders, L. J. Goatcher, and S. E. Hruedy. Actinomycetes as a factor in odor problems affecting drinking water from the north Saskatchewan river. (1994) *Wat.Res.* **28(6)**, 1393-1401.
3. A. Bruchet. Solved and Unsolved Cases of Taste and Odor Episodes in the Files of Inspector Cluzeau. (1999) *Wat. Sci. Tech.* **40(6)**, 15-21.
4. H. Tuorila, T. Pyysalo, T. Hirvi, and Ad Venvilainen. Characterisation of odors in raw and tap water and their removal by ozonation. (1980) *Vatten* **3**, 191-199.
5. S. E. Hruedy, and N. J. Low. Discussion of : the effect of disinfectants on a geosmin-producing strain of *Streptomyces griseus*. (1992) *J. appl. Bact.* **73**, 445-446.
6. N. N. Gerber. Volatile substances from actinomycetes : their role in odor pollution of water. (1979) *CRC crit. Rev. Microbiol* **7**, 191-214.
7. R. C. Hoen. Causes biologiques du goût et des odeurs des approvisionnements en eau potable. OMS, (1988) *Bulletin de la qualité des eaux*, **13**, 2-3, 50-55.
8. I. E. Suffet, K. Djanette, and A. Bruchet. The Drinking Water Taste and Odor Wheel For the Millennium: Beyond Geosmin and 2-methylisoborneol. (1999) *Wat. Sci. Tech.* **40(6)**, 1-13.
9. M. Goodfellow, and S. T. Williams. Ecology of Actinomycetes. (1983) *Ann. Rev. Microbiol.* **37**, 189.
10. S. Wood, S. T. Williams, and W. R. White. Microbes as a source of earthy flavours in potable water-a review. (1983) *Int. Biodeter. Bull.* **19**, 83-97.
11. C. P. Dionigi, D. F. Millie, A. M. Spanier, and P. B. Johnsen. Spore and geosmin production by *Streptomyces tendae* on several media. (1992) *J. Agric. F.J. Chem.* **40**, 122-125.
12. L. Malleret, and A. Bruchet. A Taste and Odor Episode caused by 246-Tribromoanisole. (2002) *Journ AWWA*. **94(7)**, 84-94.
13. A. Nyström, A. Grimvall, C. Krantz-Rülcker, R. Sävenhed, and K. Akerstrand. Drinking water off-flavour caused by 2,4,6-trichloroanisole. (1992) *At. Sci. Tech.* **25(2)**, 241-249.
14. A. Montiel, J. Ouvrard, S. Rigal, and G. Bousquet. Etude de l'origine et du mécanisme de formation de composés sapides responsables de goûts de mois dans les eaux distribuées. (1987) *T. S .M.-L'EAU* **82(2)**, 73-83.
15. C. Anselme, K. N'Guyen, A. Bruchet, and J. Mallevialle. Can polyethylene pipes impart odors in drinking water? (1985) *Environ. Technol. Let* **6**, 477-488.
16. E. Baltussen, P. Sandra, F. David, and C. J. Cramer. Automated Sorptive Extraction-Thermal Desorption-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. (1999) *Journ Microcol sep* **11**, 471.

17. M. J. McGuire, and G. Izaguire. Close-Loop Stripping Analysis as a Tool for Solving Taste and Odor Problems. (1981) *Jour. AWWA* **73(10)**, 530-537.
18. L. S. De Bruin, P. D. Josephy, and J. B. Pawliszyn. Analysis of odorous compounds by SPME. (1998) *Anal. Chem.* **70**, 1986-1991.
19. W. Meylan, and P. Howard. (2000) *Log Octanol-Water Partition Coefficient estimation Program*. Syracuse Research Corporation.
20. E. Baltussen, S. Sandra, F. David, and C. J. Cramer. Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a Novel Extraction Technique for Aqueous Samples: Theory and Principles. (1999) *Journ Microcol sep* **11**, 737-749.
21. J. Pawliszyn, (1997) Solid Phase microextraction. Theory and Practice, Wiley-VCH, p 61.

詳細情報

当社の製品およびサービスの詳細についてはウェブサイト (www.agilent.com/chem/jp) をご覧ください。

Agilentはここに含まれる大きなミスや欠落あるいは材料の供給、運用成績あるいは使用に関して生じた大きな付帯的または間接的な損害について責任を負いません。

ここに記載される情報、説明および仕様は予告なしに変更されることがあります。

GERSTELおよびTwisterはドイツGERSTEL社の登録商標です。

© Agilent Technologies, Inc. 2003

Printed in the USA
2003年3月31日
5988-8900JAJP



Agilent Technologies